

Please Click here to view the drawing

Korean FullDoc.



KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

## KOREAN PATENT ABSTRACTS

(11) Publication number: 1020030085288 A

(43) Date of publication of application: 05.11.2003

(21) Application number: 1020020023648

(22) Date of filing: 30.04.2002

(71) Applicant:

KOREA RESEARCH  
INSTITUTE OF BIOSCIENCE  
AND BIOTECHNOLOGY

(72) Inventor:

KIM, SEONG UK  
KIM, YEONG GUK  
LEE, GIL WON  
LEE, HYEON SEON  
LEE, SEUNG UNG  
NOH, MUN CHEOL  
SONG, HYE YOUNG

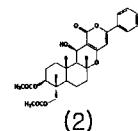
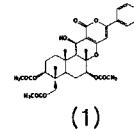
(51) Int. Cl

C07D 493 /04

## (54) PHENYL PYROPENE A AND PHENYL PYROPENE B, PREPARATION METHOD THEREOF AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING THE SAME

## (57) Abstract:

PURPOSE: Phenylpyropene A and phenylpyropene B, a preparation method thereof and a pharmaceutical composition containing the same are provided. The compounds inhibit cholesterol acyltransfer and cholesterol absorption, so that arteriosclerosis caused by hyperlipemia can be treated. CONSTITUTION: Phenylpyropene A represented by the formula 1 is provided. Phenylpyropene B represented by the formula 2 is provided. A method for preparing the phenylpyropene A and phenylpyropene B comprises culturing *Penicillium griseofulvum* F1959(KCTC 0387BP), and isolating and purifying the phenylpyropene A and phenylpyropene B from the cultured medium. A pharmaceutical composition for the treatment of hyperlipemia contains the phenylpyropene A of the formula 1 and phenylpyropene B of the formula 2.



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(51) . Int. Cl.<sup>7</sup>  
C07D 493/04

(45) 공고일자 2004년08월04일  
(11) 등록번호 10-0443265  
(24) 등록일자 2004년07월26일

(21) 출원번호 10-2002-0023648	(65) 공개번호 10-2003-0085288
(22) 출원일자 2002년04월30일	(43) 공개일자 2003년11월05일

(73) 특허권자 한국생명공학연구원  
대전 유성구 어은동 52번지

(72) 발명자 김영국  
대전광역시유성구어은동99한빛아파트102동601호

노문철  
대전광역시유성구 전민동청구나래아파트104동1605호

이현선  
대전광역시유성구이은동99한빛아파트119동703호

송혜영  
대전광역시중구유진동현대아파트112동1101호

이승용  
대전광역시서구과정동한신아파트104동105호

김성욱  
대전광역시유성구어은동99한빛아파트110동405호

이길원  
서울특별시서대문구홍제3동266-235

(74) 대리인 백남훈  
이학수

상수원 : 이재원

**(54) 신규 화합물 폐닐피로펜 A 와 폐닐피로펜 B , 이의생산방법 및 이를 포함하는 약제 조성물**

본 발명은 신규 화합물 폐닐피로펜 A(phenylpyropene A)와 폐닐피로펜 B(phenylpyropene B), 이의 생산방법 및 이를 포함하는 약제 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 페니실리움 그리세오플범(*Penicillium griseofulvum*) 균주로부터 얻은 아실-코에이:콜레스테롤 아실트란스퍼라제(ACAT, Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase) 활성저해제인 신규 화합물 폐닐피로펜 A와 폐닐피로펜 B, 이들을 생산하는 방법 및 상기 폐닐피로펜 A, 폐닐피로펜 B 또는 이의 혼합물을 포함하는 고지혈증 치료용 약제 조성물에 관한 것이다.  
본 발명에 따른 신규 화합물 폐닐피로펜 A, 폐닐피로펜 B 또는 이의 혼합물은 동맥경화 병변의 진전에 관여하는 콜레스테롤에 아실기 전이 대사를 저해하고 콜레스테롤 흡수를 저해함으로써 고지혈증으로 인한 동맥경화 및 순환기질환 치료에 매우 효과적으로 사용할 수 있다.

제10호

도 7

제10호

페닐피로펜 A(phenylpyropene A), 페닐피로펜 B(phenylpyropene B), 페니실리움 그리세오플범(*Penicillium griseofulvum*), 아실-코에이:콜레스테롤 아실트란스퍼라제(ACAT, Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase), 동맥경화, 고지혈증

제10호

도 7(1) 제10호

도 1은 페닐피로펜 A의 수소핵자기공명 스펙트럼이다.

도 2는 페닐피로펜 B의 수소핵자기공명 스펙트럼이다.

도 3은 페닐피로펜 A의 탄소핵자기공명 스펙트럼이다.

도 4는 페닐피로펜 B의 탄소핵자기공명 스펙트럼이다.

도 5는 페닐피로펜 A의 수소-탄소핵자기공명 스펙트럼이다.

도 6은 페닐피로펜 B의 수소-탄소핵자기공명 스펙트럼이다.

도 7은 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B의 아실 - 코에이:콜레스테롤 아실트란스퍼라제(ACAT)의 저해활성도를 나타내는 그래프이다.

제10호

제10호

제10호

본 발명은 신규 화합물 페닐피로펜 A(phenylpyropene A)와 페닐피로펜 B(phenylpyropene B), 이의 생산방법 및 이를 포함하는 약제 조성물에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 페니실리움 그리세오플범(*Penicillium griseofulvum*) 균주로부터 얻은 아실-코에이:콜레스테롤 아실트란스퍼라제(ACAT, Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase) 활성저해제인 신규 화합물 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B, 이들을 생산하는 방법 및 상기 페닐피로펜 A, 페닐피로펜 B 또는 이의 혼합물을 포함하는 고지혈증 치료용 약제 조성물에 관한 것이다.

보건위생의 여건이 좋아지면서 전염성 질환은 줄어들었으나 순환기 질환과 암의 발병률은 계속 증가추세에 있으며, 순환기 질환은 주로 고지혈증에 의하여 발병되며 이 질환의 사망률은 전체 사망률 중에서 상위를 차지하고 있으며, 그에 따른 의약품의 개발이 요구되고 있다.

고지혈증의 원인이 되는 콜레스테롤(cholesterol)은 음식물의 섭취에 의한 외인성 콜레스테롤과 생체내 합성(주로 간장)에 의한 내인성 콜레스테롤이 있다고 알려져 있다[Heider, J. G. , J. R. Prous Science Publishers , 1986 , 423-438]. 이러한 콜레스테롤 혹은 중성지방의 체내유입이 지나치 고지혈증이 되면 혈중에 콜레스테롤이나 트리글리세라이드(triglyceride)가 과다하게 높은 증상이 되며 동맥경화증을 일으키는 주 요인으로도 알려져 있다. 이런 증상들은 지단백질(lipoprotein)의 형성, 운반, 분해 과정 중에 이상이 생겨 지단백질의 대사가 비정상적으로 이루어지기 때문이다. 역학적 조사에 의하면 혀혈성 심장질환의 대부분은 관상동맥의 아테로마성 동맥경화증이 주된 원인이고, 혈청 콜레스테롤의 상승이 병의 발생과 친전에 중요한 인자라고 알려져 있으며, 이러한 혈청 콜레스테롤을 저하시키기 위해서는 소장에서 콜레스테롤의 흡수 저해, 간에서 콜레스테롤의 생합성 저해, 담즙산의 배설을 촉진시키는 방법들이 제시되고 있다[Goldstein, J. L. and S. M. Brown, *Nature* , 1990 , 33, 425-430; Komai, T. and Y. Tsujita, *DN and P* , 1994 , 7, 279-288]. 현재 혈청 콜레스테롤 농도를 낮추기 위하여 사용되고 있는 의약품으로는 간장에서 생합성되는 콜레스테롤의 합성을 저해하는 의약품으로 일본의 삼공, 미국의 머크(Merck) 사의 제품으로 콤팩틴(compatin)의 생물학적 변형 유도체인 프라바스타틴(pravastatin)과 심바스타틴(simvastatin)이 가장 높은 점유율과 신장률을 보이고 있다. 이들 의약품의 작용 기작은 간장에서 콜레스테롤의 생합성 과정 중 합성 중간단계에 관여하는 3-하이드록시-3-메틸 글루타릴 코에이(3-hydroxy-3-methyl glutaryl Co-A, HMG Co-A) 환원효소를 저해하는 것이다. 그러나, HMG Co-A 환원효소 저해제를 장기간 사용하면 메발로네이트(mevalonate) 이후의 콜레스테롤 합성 중간단계의 부 경로에서 생성되어 인체가 필요한 조효소 A(coenzyme A, ubiquinone), 돌리콜(dolichol), 햄 A(haem A), 파네실레이티드 단백질(farnesylated protein, Ras, lamin B) 및 콜레스테롤에서 생성되는 스테로이드(steroid)

호르몬, 비타민 D(vitamin D), 담즙산, 지단백질(lipoprotein)의 생산이 억제되는 부작용이 나타나는 것이 보고되었다 [Grunler, J., et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1994, 1212, 259-277]. 또한, HMG Co-A환원효소 저해제를 지속적으로 사용시 심장기능과 면역기능에 중요한 역할을 하는 조효소 Q(coenzyme Q)의 합성을 감소시키는 것으로 나타나, 동맥경화증 환자나 심장질환 환자에게는 악영향을 줄 수 있는 것으로 보고되었다 [Willis, R. A., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1990, 87, 8928-8930]. 현재 고지혈증 치료제로는 간장에서 합성되는 콜레스테롤의 생합성을 저해하는 저해제와, 간장에서 분리되어 음식물을 소화시키고 대장에서 재흡수되는 담즙산에 결합하는 음이온 교환체가 임상적으로 콜레스테롤 재흡수 저해제로 사용되고 있으나, 보다 사용에 제한사항이 없고, 작용기작이 확실하며 부작용이 적은 새로운 고지혈증 치료제의 개발이 요구되고 있다. 그 중에서도 ACAT활성 저해제가 고지혈증 예방과 치료에 효과가 있는 것으로 보고되었고 [Sliskovic, D. R. and A. D. White, *Trends in Pharmacol. Sci.*, 1991, 12, 194-199], 특히 동맥경화 발생 기작에 직접적으로 관련되어 있는 새로운 작용기작을 갖는 고지혈증 치료제 개발의 일환으로 ACAT저해제의 개발이 추진되고 있다. ACAT는 콜레스테롤의 아실화에 관여하여 소장에서 콜레스테롤의 흡수, 간장에서 VLDL(very low density lipoprotein)의 합성, 지방세포와 혈관내벽에 저장형 콜레스테롤의 축적에 관여하는 효소로 알려져 있다.

외국의 경우 연구소, 대학, 제약업체에서 고지혈증치료제를 개발하기 위하여 수종의 탐색체계가 개발, 운용되고 있으며 그 중에 몇몇은 개발에 성공하여 큰 성과를 올리고 있는 것도 있으나, 보다 안전하고 확실한 작용기작을 갖는 고지혈증 예방치료제로 차세대약품을 개발하기 위하여 ACAT 저해제가 탐색되고 있다 [Jeong, T. S., et al., *J. Antibiotics*, 1995, 48, 751-756]. 지금까지 연구되어진 ACAT저해제들은 화학합성품이 주로 연구대상이었으며 위너(Warner)사, 람버트(Lambert)사, 화이자(Pfizer)사, 암마노우치(Yamanouchi)사 등에서 우레아(urea), 아마이드(amide), 페놀(phenol)계의 합성화합물을 개발한 바 있다 [Matsuda, K., *John Wiley and Son, Inc.*, 1994, 271-305]. 그 중에서는 *in vivo* 활성시험을 마치고 전임상단계 시험중인 의약품 후보물질도 있으나, 아직까지 ACAT 저해제로 임상에 사용되고 있는 것은 없으므로, 새로운 구조를 갖는 선도물질을 개발하기 위하여 미생물 자원을 대상으로 탐색연구가 진행되었는데 일본 기타사토(Kitasato)연구소의 퍼팩틴(purpactin)의 구조가 밝혀진 것을 시작으로 [Tomoda, H., et al., *J. Antibiotics*, 1991, 44, 136-143] 일본 산쿄(Sankyo)사의 에피코리퀴논 A(epi-cohliquinone A) [일본 공개특허공보 특개평 4-334383, 1992], 동경 농공대의 아카텔린(acatelin) [Naganuma, S., et al., *J. Antibiotics*, 1992, 45, 1216-1221], 헬민토스포롤(helmintosporol) [Park, J. K., et al., *J. Antibiotics*, 1993, 46, 1303-1305], 라테리틴(lateritin) [Hasumi, K., et al., *J. Antibiotics*, 1993, 46, 1782-1787], 짚세틴(gypsetin) [Shinohara, C., et al., *J. Antibiotics*, 1994, 47, 163-167], 일본 기타사토(Kitasato) 연구소의 에니아틴(enniatins, Nishida, H., et al., *J. Antibiotics*, 1992, 45, 1207-1214), 글리소프레닌(glisoprenins) [Tomoda, H., et al., *J. Antibiotics*, 1992, 45, 1202-1206], 퍼리피로펜(pyripyropenes) [Omura, S., et al., *J. Antibiotics*, 1993, 46, 1168-1169; Kim, Y. K., et al., *J. Antibiotics*, 1994, 47, 154-162], 테르펜돌(terpendols) [Huang, X. H., et al., *J. Antibiotics*, 1995, 48, 1-4], 일본 교와 하코(Kyowa Hakko)사의 AS-183 [Kuroda, K., et al., *J. Antibiotics*, 1993, 46, 1196-1202], AS-186 [Kuroda, K., et al., *J. Antibiotics*, 1994, 47, 16-22], 한국생명공학연구원의 GERI-BP-001 [Jeong T. et al., *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 21 3569-3570] 및 GERI-BP-002-A [Kim, Y. K., et al., *J. Antibiotics*, 1996, 49, 31-36] 등이 보고된 바 있으나 아직까지 임상에 적용된 것은 없는 실정이다.

또한, 본 발명자들은 2001년 8월 4일자로 신규 물질 폐닐피로펜 C에 대하여 특허 출원 [국내 출원번호 제 2001-47130호]한 바 있으나, 본 발명에 따른 신규 화합물인 폐닐피로펜 A와 폐닐피로펜 B는 상기 폐닐프로펜 C에 비해 최고 50배의 약효를 가짐을 확인하였다.

#### 발명의 주제 및 그 기술 분야

본 발명자들은 새로운 콜레스테롤 대사억제물질을 분리하기 위해 탐색한 결과, 푸른 곰팡이 속 미생물인 폐니실리움 그리세오풀럼(*Penicillium griseofulvum*)의 대사산물에서 신규 구조의 폐닐피로펜 A와 폐닐피로펜 B를 분리하고, 이 화합물들이 아실-코에이:콜레스테롤 아실트란스퍼라제의 활성을 저해하여 콜레스테롤 대사억제효과를 가짐을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

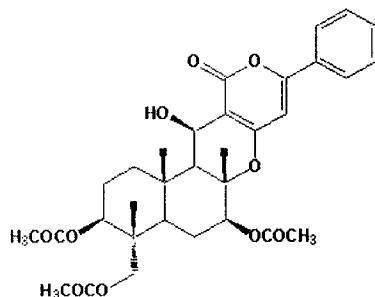
따라서, 본 발명은 아실-코에이:콜레스테롤 아실트란스퍼라제(ACAT, Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase) 활성 저해제인 신규한 폐닐피로펜 A(phenylpyropene-A)와 폐닐피로펜 B(phenylpyropene-B)를 제공하는데 그 목적이 있다.

또한, 상기 신규 화합물을 생산하는 방법 및 이 화합물을 포함하는 약제 조성물을 제공하는데 또 다른 목적이 있다.

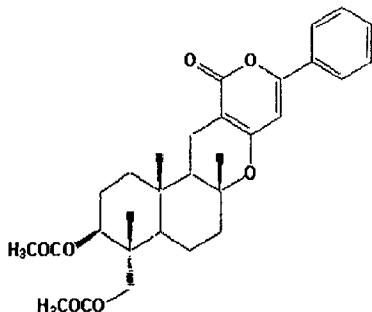
#### 발명의 내용 및 그 특징

본 발명은 아실-코에이:콜레스테롤 아실트란스퍼라제(ACAT, Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase) 활성 저해제인 다음 화학식 1로 표시되는 화합물 폐닐피로펜 A(phenylpyropene A) 및 다음 화학식 2로 표시되는 폐닐피로펜 B(phenylpyropene B)를 그 특징으로 한다.

## 【화학식 1】



## 【화학식 2】



또한, 본 발명은 상기 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B를 생산하는 방법 및 이 화합물들을 유효성분으로 포함하는 고지혈증 치료용 약제 조성물을 포함한다.

이와 같은 본 발명을 더욱 상세히 설명하면 다음과 같다.

본 발명은 페니실리움 그리세오플범(*Penicillium griseofulvum*) 균주로부터 얻은 아실-코에이:콜레스테롤 아실트란스퍼라제 활성저해제인 신규 화합물 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B, 이들을 생산하는 방법 및 상기 페닐피로펜 A, 페닐피로펜 B 또는 이의 혼합물을 포함하는 고지혈증 치료용 약제 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 신규 화합물을 얻기 위하여 페니실리움 그리세오플범, 바람직하게는 페니실리움 그리세오플범 F1959(KCTC 0387BP)를 전탕 배양하고 배양된 밭효액으로부터 활성물질을 분리, 정제한다. 정제된 활성물질의 구조를 결정하기 위하여 자외선-가시광선 분광, 적외선 흡광, 질량분석, 핵자기공명의 기기분석을 수행한다. 상기 분석 결과들을 종합하여 활성물질의 구조를 결정하고 이를 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B라고 명명하였으며, 이들 화합물의 아실-코에이:콜레스테롤아실트란스퍼라제(ACAT)에 대한 활성 저해 효과를 측정한 결과, 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B는 아실 코에이:콜레스테롤 아실 트란스퍼라제 효소의 활성을 저해하는 효과가 탁월한 것으로 나타났다. 미생물 대사산물 중 가장 강력한 ACAT 저해활성을 나타내는 피리피로펜 C(pyripyropene C)보다는 저해효과가 적었으나, 피리피로펜 C를 생산하는 균주는 아스페기illus 퓨마가투스(*Aspergillus fumigatus*)로 인체에 치명적인 폐렴을 유발하는 등 아주 유해하기 때문에 활성성분을 생산하기 위한 시설은 인체방호시설이 필수적이므로 고가의 시설투자와 많은 유지비가 소요되어 산업적 생산에 이용하기에 어려운 문제점이 있다. 그러나, 본 발명에 따른 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B는 안전성이 확보된 페니실리움 그리세오플범이 생산하는 신규 활성물질로 소장에서 콜레스테롤의 체내 흡수를 저해하여 혈중 콜레스테롤 농도를 저하시키는데 유효하며, 간장에서 VLDL(Very Low Density Lipoprotein)의 합성을 저해하여 혈중의 LDL콜레스테롤 저하, 혈관내의 동맥경화 병변에서 동맥경화의 진전에 관여하는 콜레스테롤 아실화를 저해하여, 고 콜레스테롤증에 기인하는 고지혈증, 동맥경화 등 각종 심혈관계질환의 예방 및 치료용의약품으로 유용하게 사용될 수 있다.

본 발명에 따른 페닐피로펜 A, 페닐피로펜 B 또는 이의 혼합물은 임상투여시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품제제의 형태로 사용될 수 있다.

즉, 본 발명에 따른 페닐피로펜 A, 페닐피로펜 B 또는 이의 혼합물은 실제 임상투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 재제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 페닐피로펜 A, 페닐피로펜 B 또는 이의 혼합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 혼탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 유동 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 혼탁제, 유제, 동결건조제, 콰제가 포함된다. 비수성용제, 혼탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 석물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 콰제의 기재로는 위테솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될

수 있다.

본 발명에 따른 페닐피로펜 A, 페닐피로펜 B 또는 이의 혼합물의 유효투여량은 10 내지 100 mg/kg 이고, 바람직 하기로는 10 내지 30 mg/kg이며, 하루 1 내지 3 회 투여될 수 있다.

이하, 본 발명을 다음 실시예에 의거하여 상세히 설명하겠는 바, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

#### 실시예 1 : 콜레스테롤 대사억제물질의 생산 및 분리정제

본 발명자들은 -80 °C에서 10% 글리세롤을 첨가하여 보관된 생산균주 페니실리움 그리세오플범 F1959(KCTC 038 7BP)를 방지판(baffle)이 있는 1 ℥ 삼각플라스크의 멸균된 100 mL 종균배지(0.5% 포도당, 0.2% 이스트 추출물, 0.5% 폴리펩톤, 0.1% 인산칼륨, 0.05% 황산마그네슘 칠매결정수, pH 5.8)에 접종하여 29 °C에서 18시간 동안 진탕 배양하였다. 배양된 종균 20 mL를 5 ℥ 삼각플라스크의 멸균된 1 ℥ 생산배지(2% 가용성 전분, 0.4% 소이톤, 0.3% 파마미디아, 0.1% 인산칼륨, 0.05% 황산마그네슘 칠매결정수, 0.3% 탄산칼슘, 0.2% 식염, pH 5.8)에 접종하여 29 °C에서 120시간 동안 진탕 배양하였다. 배양된 발효액에 동량의 에틸 아세테이트를 첨가하여 교반추출 및 감압 농축하여 갈색유상의 조 추출물(crude extract)을 얻은 후, 실리카겔(Merck, 9385) 컬럼크로마토그래피를 통해 실리카겔 4배량의 클로로포름-메탄올 액(99:1, 98:2, 97:3, 95:5, 90:10 V/V%)을 흘려 분액하여 활성이 있는 분액의 유기용매층을 얻고 이를 감압 농축하여 유상의 황갈색 물질을 얻었다. 최종적으로 고속 액체 크로마토그래피를 사용하여 본 발명의 페닐피로펜 A와 B를 정제하였는데 고속 액체 크로마토그래피 컬럼으로는 와이엠씨(YMC)사의 ODS (20 × 250 mm)를 사용하였으며, 검출기는 자외선검출기를 사용하여 320 nm에서 검출하였다. 활성성분은 아세토나이트릴/물(7 5/25)을 용매로 하여 분당 8 mL를 용출시켰고 활성물질은 15분과 26분에 용출되었고 일단 활성물질 A와 B로 하였고 분액을 감압농축하여 완전히 정제된 활성물질은 무색의 무정형 결정이다. 활성물질의 생산량은 120시간 배양한 발효액 1 L당 활성물질 A와 B는 2.9 mg과 3 mg 생산되었다.

#### 실시예 2: 기기분석 및 구조결정

상기 실시예 1에서 분리, 정제된 활성물질의 구조를 결정하기 위하여 자외선-가시광선 분광, 적외선 흡광, 질량분석, 핵자기공명의 기기분석을 수행하였다.

먼저, 자외선-가시광선 흡광도분석은 완전히 정제된 활성물질 A를 100% 메탄올에 녹여 자외선-가시광선 분광기(Shimazu사, UV-265)를 이용하여 흡수파장을 분석한 결과, 메탄올 용액에서 UV 극대값이 238 nm (208,000), 322 nm (137,000) 극대 흡광치를 나타냈다.

적외선(IR) 흡광도 분석은 활성물질 A 시료 2 mg을 클로로포름에 녹여 AgBr 창에 바른 후 건조시켜 씨울기록 적외선 분광기(Bio-Rad Digilab Division, FTS-80)로 분석한 결과, 특이적으로 1740 cm<sup>-1</sup> 와 1702 cm<sup>-1</sup>에서 흡수 피크를 관찰되었으므로 분자구조에 COO그룹의 존재를 추정할 수 있었다.

분자량 분석은 활성물질 A를 VGZAB-7070 질량분석기를 이용하여 고분해능 질량분석을 한 결과, 분자량은 582이고, 분자식은 C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>O<sub>10</sub>으로 추정되었다.

핵자기공명(NMR) 분석은 활성물질 A 시료 10 mg을 완전 건조하여 CDCl<sub>3</sub>에 녹여 5 mm NMR튜브에 넣고 Varian Unity-500기종으로 NMR 분석하였으며 <sup>1</sup>H-NMR은 500.13 MHz로, <sup>13</sup>C-NMR은 125.75MHz로 측정하였다. 활성물질 A의 구조에는 수소가 38개, 탄소가 32개로 존재가 추정되었으며, DEPT실험에서 구성된 탄소들은 6개의 메틸, 4개의 메틸렌, 5개의 메틴(metine), 3개의 quaternary 탄소, 6개의 sp<sup>2</sup> methine, 5개의 sp<sup>2</sup> quaternary 탄소, 3개의 카보닐의 형태로 추정되었다. <sup>1</sup>H-NMR결과에서 방향족(aromatic) 구조에서 전형적으로 나타나는 더블렛(doublet)의 7.78 ppm 프로톤(H-2'와 H-6')과 세 개의 프로톤(7.43 ppm; H-3', H-4', H-5')은 물질구조 중에 페닐기의 한곳이 치환된 부분구조의 존재가 추정되었다. DEPT와 HMQC 스펙트럼으로 수소와 연결된 탄소의 형태와 위치를 부분적으로 추정하였고, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY실험을 통하여 물질의 부분구조를 추정하였다. 고 자장영역(δ 1.10 - 1.90)에서 겹쳐진 신호들로 나타나 연결된 상태를 추정할 수 없어 DSPD(differential selective proton decoupling spectra)로 프로톤의 연결 상태를 추정하였는데 δ 4.80 (3-H) 와 δ 1.18 (3-Hb)을 조사하면 δ 1.70 (2-Hb)과 δ 1.84 (2-Ha)의 신호가 단순화되는 것으로 보아 물질구조 중에 O-CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-의 부분구조가 추정되었다. HMB C(Heteronuclear Multiple Bond Correlation) 실험을 통하여 물질구조 중의 다른 탄소와 수소결합 형태를 추정하였는데 6.37 (14-H)의 메틴 프로토인이 δ 99.25 (C-12), δ 163.20 (C-13), δ 158.34 (C-15), δ 164.45 (C-16)의 네 탄소와 관련 있는 것으로 나타났으므로 두 위치가 치환된 6-(1-페닐)-α-페론의 존재를 추정하였다. 9-H에서 11-H 수소들은 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY에서 5-H (δ 1.52)의 신호들과 원거리에서 관련 신호가 나타났고, C-11 (δ 17.27)은 δ 51.57 (C-9)과 관련 신호가 나타났으므로 탄소의 위치가 인접해 있는 것으로 추정되었다. <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C 원거리 관련 실험에서 11-H<sub>2</sub> (δ 2.55 와 2.32)는 C-13 (δ 163.20), C-16 (δ 164.45), C-12 (δ 99.25)와 관련신호가 나타났으므로 메틸렌 탄소가 C-12탄소에 결합되어 있는 형태로 이는 물질의 부분구조 중에 디테르펜(diterpene) 구조와 α-페론(α-pyrone)이 결합된 형태의 존재가 추정되었다. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 와 HMBC 결과에서 C-9탄소는 >C(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH의 부분과 결합하고 있는 것으로 추정되었다. 그리고, δ 0.87 (19-H<sub>3</sub>)의 메틸기는 δ 73.69 (C-3), δ 4.053 (C-4), δ 65.10 (C-18)탄소와 이웃하는 것으로 나타났고, δ 1.27 (17-H<sub>3</sub>)의 메틸기는 δ 80.38 (C-8), δ 39.99 (C-7)탄소와 이웃하는 것으로 나타났고, δ 0.98(20-H<sub>3</sub>)의 메틸기는 δ 47.62(C-5), δ 51.57 (C-9), δ 36.75 (C-1), δ 36.67 (C-10)탄소와 이웃하는 것으로 나타났고, δ 1.27 (17-H<sub>3</sub>)의 메틸기는 δ 80.38 (C-8), δ 51.57 (C-9), δ 39.99 (C-7)탄소와 이웃한 것으로 보아 물질구조에 디테르펜의 존재가 추정되었다. 그리고, HMBC에서 δ 4.80 (3-H)에 인접한 옥시메틴(oxymethylene)인 δ 170.51이 연결되어 있고, δ 2.04의 메틸 프로토인이 δ 170.51과 연결되어 있어 3번 탄소에 연결되어 있는 아세톡시(acetoxy) 위치를 결정하였다. δ 5.02 (7-H)에 인접한 옥시메틴인 δ 169.98이 연결되어 있고 δ 2.15의 메틸 프로토인이 δ 169.98과 연결되어 있어 7번 탄소에 연결되어 있는 아세톡시 위치를 결정하였다. 그리고 δ 3.82와 δ 3.77 (18-H2)이 옥시메틴인 δ 170.91과 연결되고 δ 40.53 (C-4)과 연결되어 있으며, δ 2.06의 메틸 프로토인이 δ 170.91과 연결되어 있는 것으로 나타나 18번의 탄소에 연결되어 있는 아세톡시 위치

를 결정하였다. 이상의 결과와 활성물질 A의 수소-탄소 연관관계와 HMBC 결과들을 종합하여 활성물질의 구조를 결정하였다. 본 발명의 활성물질은 GERI-BP001[Jeong T. et al., Tetrahedron Lett. 1994, 35,21 3569-3570]의 구조와 유사하지만, GERI-BP001은 피리дин(pyridine),  $\alpha$ -페론, 디테르펜으로 이루어져 있고, 본 발명의 활성물질에는 피리딘기가 없고 페닐기와  $\alpha$ -페론, 디테르펜으로 구성되었으며 3번, 7번, 18번 탄소에 각각 아세톡시가 결합된 신규화합물로 구조를 규명하여 발명을 완성하였다. 이상의 결과와 수소-탄소 연관관계와 HMBC 결과들을 종합하여 활성물질의 구조를 결정하고 구조 중에 페닐기와 페론과 테르펜으로 이루어졌으므로 이 화합물을 페닐페로펜 A라고 명명하였다.

또한, 상기 실시예 1에서 고속액체크로마토그래피에서 26분에 분리된 활성물질 B의 구조를 결정하기 위하여 자외선-가시광선 분광, 적외선 흡광, 질량분석, 핵자기공명의 기기분석을 수행하였다.

활성물질 B를 VGZAB-7070 질량분석기를 이용 고분해능 질량분석을 한 결과, 분자량은 508이고, 분자식은  $C_{30}H_{36}O_7$ 로 추정되었다.

활성물질 B 시료 10 mg을 완전 건조하여  $CDCl_3$ 에 녹여 5 mm NMR튜브에 넣고 Varian Unity-500기종으로 NMR 분석하였으며  $^1H$ -NMR은 500.13 MHz로,  $^{13}C$ -NMR은 125.75 MHz로 측정하였다. 활성물질 B의 구조에는 수소가 36개, 탄소가 30개로 존재가 추정되었으며, DEPT실험에서 구성된 탄소들은 5개의 메틸, 6개의 메틸렌, 3개의 메틴, 3개의 quaternary 탄소, 6개의  $sp^2$  메틴, 5개의  $sp^2$  quaternary 탄소, 2개의 카보닐의 형태로 추정되었다.  $^1H$ -NMR결과에서 방향족 구조에서 선형적으로 나타나는 더블렛의 7.78 ppm 프로톤(H-2'와 H-6')과 세 개의 프로톤(7.43 ppm; H-3', H-4', H-5')은 물질구조 중에 페닐기의 한곳이 치환된 부분구조의 존재가 추정되었다. DEPT와 HMQC 스펙트럼으로 수소와 연결된 탄소의 형태와 위치를 부분적으로 추정하였고,  $^1H$ - $^1H$  COSY실험을 통하여 물질의 부분구조를 추정하였다. 고 자장영역( $\delta$  1.10 ~ 1.90)에서 겹쳐진 신호들로 나타나 연결된 상태를 추정할 수 없어 DSDP(differential selective proton decoupling spectra)로 프로톤의 연결 상태를 추정하였는데  $\delta$  4.80 (3-H)와  $\delta$  1.18 (3-Hb)을 조사하면  $\delta$  1.70 (2-Hb)과  $\delta$  1.84 (2-Ha)의 신호가 단순화되는 것으로 보아 물질구조 중에  $O-CH-CH_2-CH_2-$ 의 부분구조가 추정되었다. HMBC 시험을 통하여 물질구조 중의 다른 탄소와 수소결합 형태를 추정하였는데 6.37 (14-H)의 메틴 프로톤이  $\delta$  99.25 (C-12),  $\delta$  163.20 (C-13),  $\delta$  158.34 (C-15),  $\delta$  164.45 (C-16)의 네 탄소와 관련 있는 것으로 나타났으므로 두 위치가 치환된 6-(1-페닐)- $\alpha$ -페론의 존재를 추정하였다. 9-H에서 11-H 수소들은  $^1H$ - $^1H$  COSY에서 5-H ( $\delta$  1.52)의 신호들과 원거리에서 관련 신호가 나타났고, C-11 ( $\delta$  17.27)는  $\delta$  51.57 (C-9)와 관련 신호가 나타났으므로 탄소의 위치가 인접해 있는 것으로 추정되었다.  $^1H$ - $^{13}C$  원거리 관련 실험에서 11-H<sub>2</sub> ( $\delta$  2.55 와 2.32)는 C-13 ( $\delta$  163.20), C-16 ( $\delta$  164.45), C-12 ( $\delta$  99.25)와 관련신호가 나타났으므로 메틸렌 탄소가 C-12탄소에 결합되어있는 형태로 이는 물질의 부분구조 중에 디테르펜 구조와  $\alpha$ -페론이 결합된 형태의 존재가 추정되었다.  $^1H$ - $^1H$  COSY와 HMBC 결과에서 C-9탄소는 >C(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH의 부분과 결합하고 있는 것으로 추정되었다. 그리고,  $\delta$  0.87 (19-H<sub>3</sub>)의 메틸기는  $\delta$  73.69 (C-3), 40.53 (C-4), 65.10 (C-18)탄소와 이웃하는 것으로 나타났고,  $\delta$  1.27 (17-H<sub>3</sub>)의 메틸기는  $\delta$  80.38 (C-8), 39.99 (C-7)탄소와 이웃하는 것으로 나타났고,  $\delta$  0.98(20-H<sub>3</sub>)의 메틸기는  $\delta$  47.62(C-5), 51.57 (C-9), 36.75 (C-1), 36.67 (C-10)탄소와 이웃하는 것으로 나타났고,  $\delta$  1.27 (17-H<sub>3</sub>)의 메틸기는  $\delta$  80.38 (C-8), 51.57 (C-9), 39.99 (C-7)탄소와 이웃한 것으로 보아 물질구조에 디테르펜의 존재가 추정되었다. 그리고 HMBC에서  $\delta$  4.80 (3-H)에 인접한 옥시메틴인  $\delta$  170.51이 연결되어 있고  $\delta$  2.04의 메틸 프로톤이  $\delta$  170.51과 연결되어 있어 3번 탄소에 연결되어 있는 아세톡시기를 결정하였다. 그리고,  $\delta$  3.82와 3.77 (18-H<sub>2</sub>)이 옥시메틴인  $\delta$  170.91과 연결되고  $\delta$  40.53 (C-4)과 연결되어 있으며,  $\delta$  2.06의 메틸 프로톤이  $\delta$  170.91과 연결되어있는 것으로 나타나 18번의 탄소에 붙어있는 아세톡시 위치를 결정하였다. 이상의 결과와 활성물질 B의 수소-탄소 연관관계와 HMBC 결과들을 종합하여 활성물질의 구조를 결정하였다. 본 발명의 활성물질은 페닐페로펜 A의 구조와 유사하지만 활성물질 B에는 페닐기와  $\alpha$ -페론, 테르펜으로 구성되었으며 3번 탄소와 18번 탄소에 각각 아세톡시가 결합된 신규화합물로 구조를 규명하여 이를 페닐페로펜 B라고 명명하였다.

### 실시예 3 : 활성물질의 ACAT 저해효과 분석

본 발명에 따른 페닐프로펜 A와 B의 아실-코에이:콜레스테롤아실트란스페라제(ACAT)에 대한 활성 저해 효과를 에릭슨(Ericson)의 방법을 약간 수정하여 사용하였다[Ericson, S. K., et al., *J. Lipid Res.*, 1980, 21, 930-9418]. ACAT 활성 효소원으로는 한국생명공학연구원 실험동물실에서 사육하고 있는 특정미생물에 오염되지 않은 실험용 흰쥐의 간으로부터 부분 정제한 마이크로솜을 사용하였으며, 기질로는 콜레스테롤(cholesterol)과 방사능으로 표지된 올레오일 코에이(oleoyl Co-A)를 반응시켜 반응생성물인 콜레스테롤 에스테르(cholesterol ester)에 포함된 방사능의 량으로 효소 반응정도를 측정하는 방법을 이용하였다. 구체적으로 아세톤에 용해시킨 콜레스테롤과 역시 아세톤에 용해시킨 트리톤(Triton) WR-1339를 혼합하여 물에 완전히 혼탁시키고 질소가스로 아세톤을 제거한 후 칼륨-인산 완충액(K-phosphate buffer, pH 7.4, 최종농도 0.1 M)을 넣고 효소반응을 안정화시키기 위하여 30  $\mu$  M의 소 혈청 단백질(bovine serum albumin)을 첨가한 후, DMSO로 녹인 시료를 10  $\mu$  l 씩 넣어 37 °C에서 30분 동안 혼들어주면서 전 반응시킨 후, 본 반응은 기질인 [ $1-^{14}C$ ]올레오일-코에이(oleoyl-Coenzyme A)를 0.04  $\mu$  Ci가 되게 넣고 37 °C에서 30분 동안 혼들어 주면서 본 반응시킨 후, 이소프로판올-헵탄(isopropanol-heptane) 1  $\text{mL}$ 를 넣어 반응을 정지시기고 노말 헵탄 0.6  $\text{mL}$ 와 KPI 완충액 0.4  $\text{mL}$ 를 넣어 잘 섞은 후 정치하여 상하층액이 분액이 되면 상등액 200  $\mu$  l를 취하여 섬광계수기용 마이알(scintillation vial)에 넣고 섬광계 수기용 혼합액(scintillation cocktail, Lipoluma, Lumac Co.) 4  $\text{mL}$ 를 넣어 섬광계수기(scintillation counter, Packard Delta-200)를 이용하여 생성된 콜레스테릴 올레이트(cholesteryl oleate)의 양을 측정하였으며 저해활성을 다음 수학식 1에 따라 계산하였다.

## [ 1. 품질 ]

$$\text{저해활성}(\%) = [1 - \frac{T-B}{C1-B}] \times 100$$

T : 효소반응액에 시료를 넣은 시험구의 cpm값.

C : 효소반응액에 시료를 넣지 않은 대조구의 cpm값.

B : 효소원을 넣지 않고 시료를 넣은 대조구의 cpm값

그 결과, 본 발명의 페닐피로펜 A는 아실 코에이 콜레스테롤 아실 트란스퍼라제 저해율을 측정한 결과, 효소의 활성을 50% 저해하는 시료의 량이 최종농도로 500 ng/ml로 측정되었고, 활성물질의 분자량이 581이기 때문에 효소의 활성을 50% 저해하는 농도 IC<sub>50</sub> 가 0.86 μM로 계산되었다.

페닐피로펜 B는 아실 코에이 콜레스테롤 아실 트란스퍼라제 저해율을 측정한 결과, 효소의 활성을 50% 저해하는 시료의 량이 최종농도로 6.5 μg/ml로 측정되었고, 활성물질의 분자량이 508이기 때문에 효소의 활성을 50% 저해하는 농도 IC<sub>50</sub> 가 12.8 μM로 계산되었다.

## 실시예 4 : 고지혈증 억제효과

아포리포프로테인 E 결핍 쥐(Apolipoprotein E deficient mice) 실험동물은 아포리포프로테인 E 네-아웃(knock-out)[Apo E-/-] 마우스 C57BL6/J[origin : USA, 생명공학연구소 실험동물실에서 분양]를 사용하였다. 사육환경은 빛은 12시간 점등/12시간 소동을 엄격히 지키면서 온도로 항상성을 유지하면서 사육하였다. 공시동물 및 사육환경은 생명공학연구소 실험동물 사육장에서 1주일간 순화검역을 실시한 실험동물을 건강하다고 인정된 개체만을 실험재료로 사용하였다. 사육환경은 일반적으로 실험동물 사육장의 배리어 시스템(barrier system) 환경규정(온도: 23 ± 1 °C, 습도: 55 ± 5%, 환기회수: 15회/1시간, 조명시간: 점등 12시간/소등 12시간, 조도: 150 ~ 300 lux, 암모니아 취기: 200 ppm 이하, 소음: 60 db 이하, 기류: 0.1 m 이하/초)을 적용하였으며 와이어 케이지(wire cage, rat용, 410 × 220 × 200 mm)를 이용하여 케이지당 5마리를 수용하여 사육하였다. 급수는 121 °C에서 20분간 고압증기 멸균된 수돗물을, 사료는 멸균된 주문용 실험동물사료로 자유급여하였다. 탐색된 콜레스테롤대사 저해활성물질의 고지혈증관련 동물활성 평가를 위하여 미국의 Upjohn 제약 연구소와 긴밀한 기술정보 교류를 통하여 HDL로부터 LDL로 콜레스테릴 에스터의 전이에 관련하는 CETP 발현 형질전환 쥐(transgenic mice)를 공여받아 동물시험에 이용하기 위하여 번식 중에 있으며, 미국 Chapel Hill의 University of North Carolina 의대 병리학교실의 Nobuyo Maeda 박사가 동맥경화증의 원인이 되는 리포프로테인과 결합하는데 관련된 LDL수용체의 유전자를 네아웃시켜 혈증 콜레스테롤과 각종 리포프로테인들이 증가하여 죽상경화반을 형성하게 만들어진 아포-E 네아웃 마우스(C57 BL/6J-Apoetml Unc)를 Jackson Lab.에서 인수하여 동맥경화증의 활성평가 연구를 위하여 확보한 동물은 아포-E 유전자 적중동물 대조군인 야생형(wild type)(+/+)과 이형접합체(heterozygote)(+/-), 동형접합체(homozygote)(--)를 생산하여 고지혈증의 경감 활성에 *in vivo* 활성 평가하였다. 동형접합체는 3 마리(1 female, 2 male)에 대조군 쥐 2 마리(male), 이형접합체는 2 마리(male)에 대조구 쥐 2마리(male) 야생형 쥐는 대조구 2 마리(1 male, 1 female)를 시험에 사용하였다. *In vitro*에서 저해활성이 높았던 페닐피로펜 A를 동물활성 시험하였다. 화합물은 10 % 에탄올에 녹여 5 mg/kg씩 5주 동안 48시간에 한번씩 경구투여하였다. 투여하는 동안에 마우스의 행동변화나 독성에 의한 사망여부 또한 관찰하였다. 혈액분석을 위해 동물 실험시 화합물을 투여하기 전에 채혈을 하고, 동물실험이 끝난 후 채혈하였다. 다음 표 1과 같이, 아포리포프로테인 E 결핍 쥐로 실험한 동물활성은 페닐피로펜 A를 5주간 투여하였을 때 동형접합체(--)는 비교구와 비교하여 페닐피로펜 A를 투여하였을 때 전체 콜레스테롤의 량이 36%정도 감소되는 것으로 나타났으며, 이형접합체(+/--)는 비교구와 비교하여 페닐피로펜 A를 투여하였을 때 전체 콜레스테롤의 량이 33%정도 감소되는 것으로 나타났다.

전체 콜레스테롤 (단위: mg/ml)					
투여시기	-/- (대조군)	-/- (시험군)	+/- (대조군)	+/- (시험군)	+/+ (대조군)
0 주	1	1	1	1	1
2 주	2.1	1.68	1.45	1.38	1.21
5 주	2.44	1.55	1.8	1.2	1.2

## 실시예 5 : 급성독성 시험

본 발명자들은 실험동물을 이용하여 본 발명의 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B의 *in vivo* 급성독성 실험을 수행하였다. 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B를 각각 체중이 25 g 정도의 ddY 마우스의 복강에 200 mg/kg 용량으로 주사한 결과, 투여 30분 후 활동량이 조금 줄어들었으나, 투여 2시간 후 이런 증상이 나타나지 않았고, 투여 7일 후까지 사망하지 않았으므로, 이 물질에 대한 급성독성은 200 mg/kg 용량까지는 없는 것으로 판단되었다.

## 실시예 6: 정제의 제조

유효성분 10 g

락토스 70 g

결정성 셀룰로오스 15 g

마그네슘 스테아레이트 5 g

총량 100 g

상기에서 나열된 성분들을 잘게 부숴 혼합한 후 직타법(direct tabletting method)에 의해 정제를 제조하였다. 각 정제의 총량은 100 mg이고, 11 중 유효성분의 함량은 10 mg이다.

#### 실시예 7: 캡슐제의 제조

유효성분 10 g

옥수수 전분 50 g

카르복시 셀룰로오스 40 g

총량 100 g

상기에서 나열된 성분들을 잘게 부숴 혼합하여 분말을 제조하였다. 경질 캡슐에 분말 100 mg을 넣어 캡슐제를 제조하였다.

#### 실시예 8: 시럽제의 제조

본 발명에 따른 신규 화합물을 유효성분 2%(중량/부피)로 함유하는 시럽은 다음과 같은 방법으로 제조하였다.

상기 신규 화합물의 산부가염, 사카린, 당을 온수 80 g에 용해시켰다. 이 용액을 냉각시킨 후, 여기에 글리세린, 사카린, 향미료, 에탄올, 소르보산 및 증류수로 이루어진 용액을 제조하여 혼합하였다. 이 혼합물에 물을 첨가하여 100 ml가 되게 하였다. 상기 부가염은 실시예에 의한 다른 염으로 대치시킬 수 있다.

#### 화학식 1

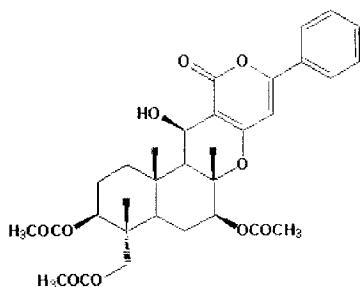
이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 따른 페닐피로펜 A와 페닐피로펜 B는 동맥경화 병변의 진전에 관여하는 콜레스테롤에 아실기 전이대사를 저해하고 콜레스테롤 흡수를 저해함으로 고지혈증으로 인한 동맥경화 및 순환기질환 치료용 약제 조성물로 유용하게 사용될 수 있다.

#### 화학식 1

##### 청구항 1.

다음 화학식 1로 표시되는 페닐피로펜 A(phenylpyropene A).

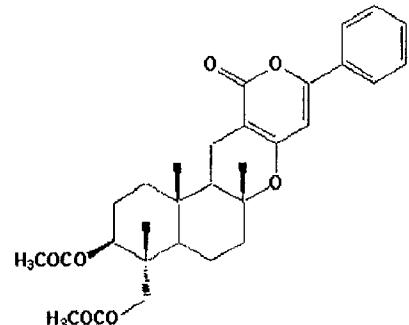
화학식 1



##### 청구항 2.

다음 화학식 2로 표시되는 페닐피로펜 B(phenylpyropene B).

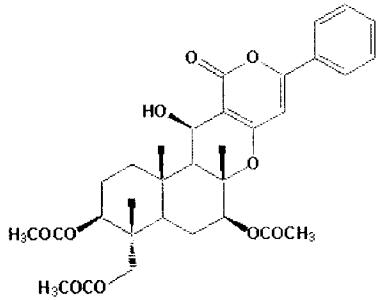
화학식 2



##### 청구항 3.

페니실리움 그리세오풀룸(*Penicillium griseofulvum*) 균주를 배양하고 배양된 발효액으로부터 페닐피로펜 A를 분리, 정제하는 것을 특징으로 하는 다음 화학식 1로 표시되는 페닐피로펜 A(phenylpyropene A)의 생산방법.

화학식 1



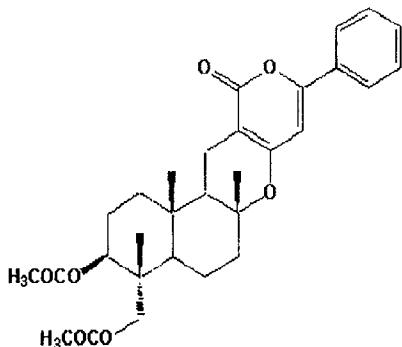
## 청구항 4.

제 3 항에 있어서, 상기 균주는 페니실리움 그리세오풀범( *Penicillium griseofulvum* ) F1959[KCTC 0387BP]인 것을 특징으로 하는 생산방법.

## 청구항 5.

페니실리움 그리세오풀범( *Penicillium griseofulvum* ) 균주를 배양하고 배양된 발효액으로부터 페닐피로펜 B를 분리, 정제하는 것을 특징으로 하는 다음 화학식 2로 표시되는 페닐피로펜 B(phenylpyropene B)의 생산방법.

화학식 2



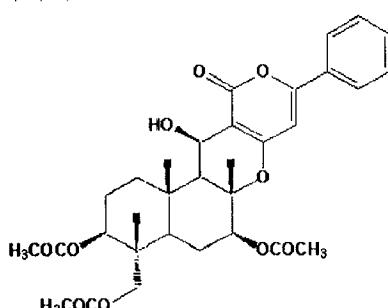
## 청구항 6.

제 5 항에 있어서, 상기 균주는 페니실리움 그리세오풀범 F1959[KCTC 0387BP]인 것을 특징으로 하는 생산방법.

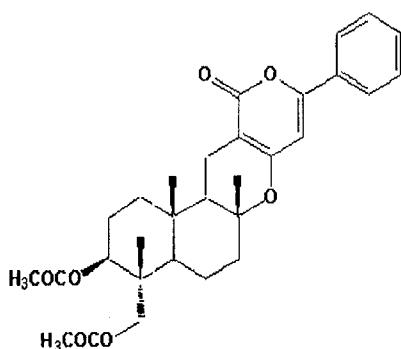
## 청구항 7.

다음 화학식 1로 표시되는 페닐피로펜 A(phenylpyropene A), 다음 화학식 2로 표시되는 페닐피로펜 B(phenylpyropene B) 또는 이의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 고지혈증 치료용 약제 조성물.

화학식 1

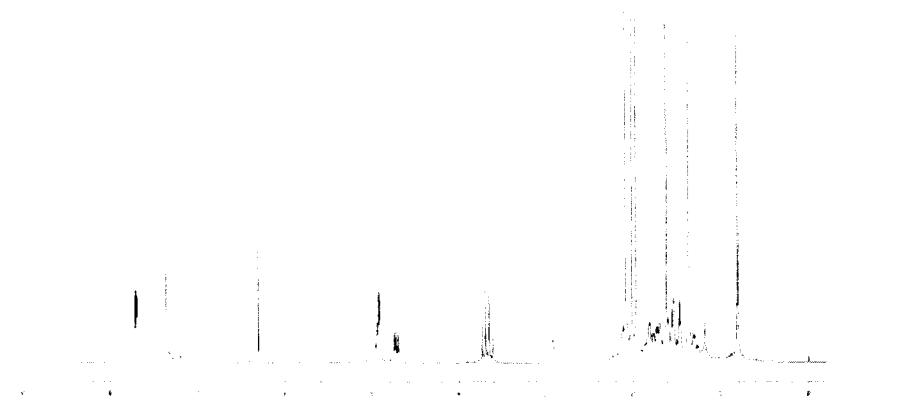


화학식 2

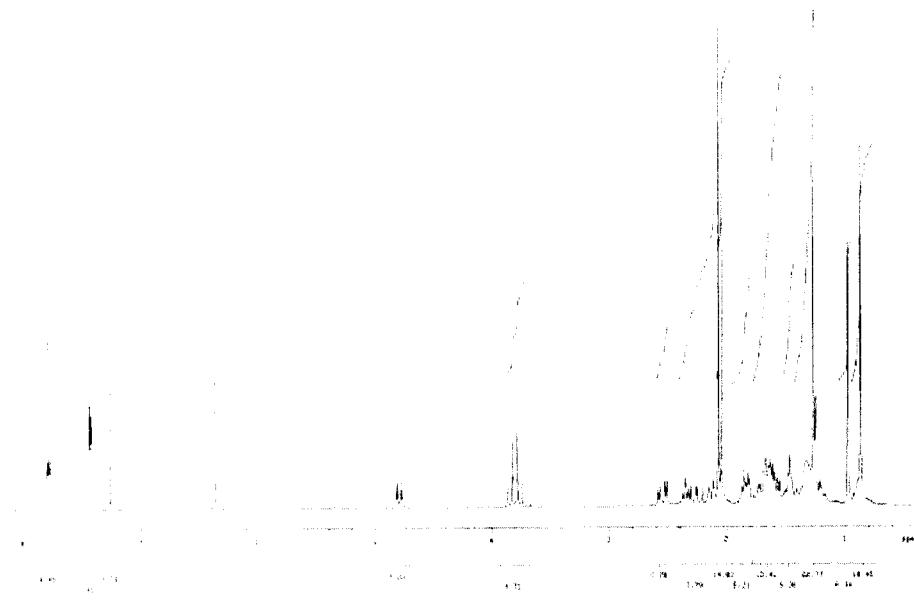


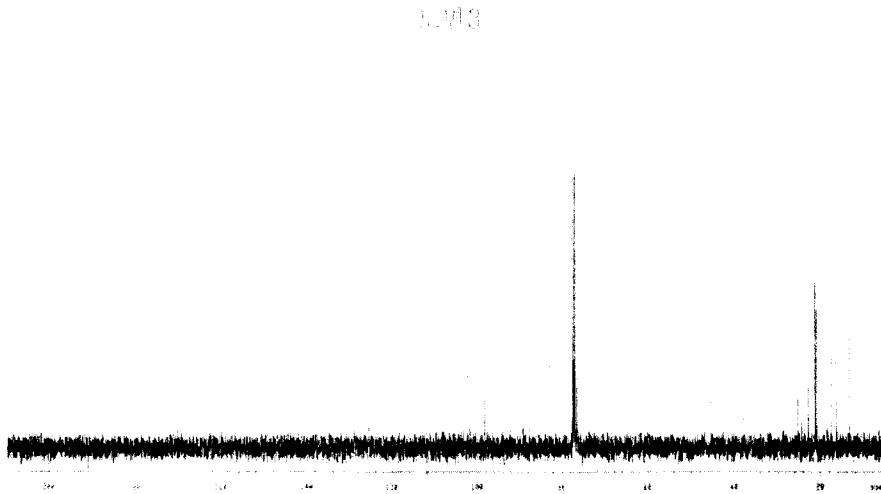
10

도면 1

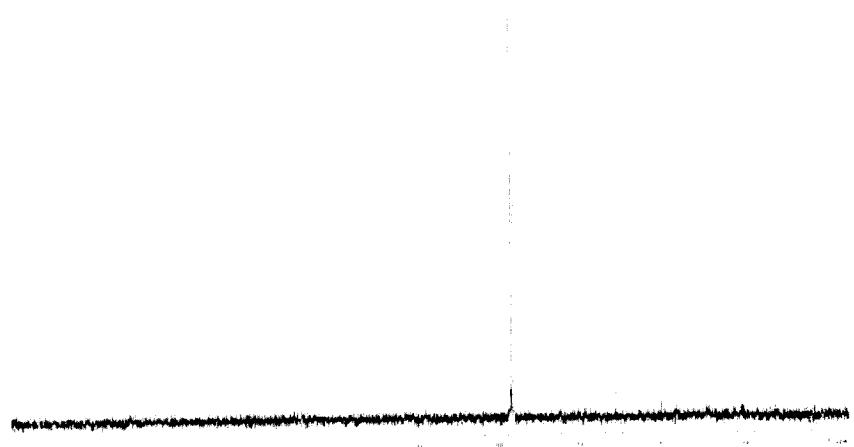


도면 2



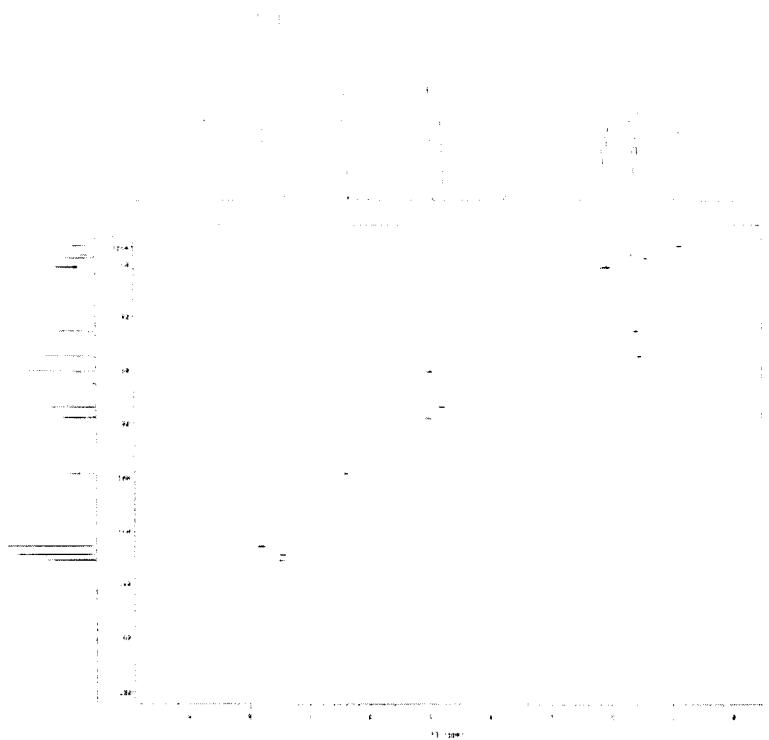


1. [A]



2. [B]

등록특허



등록특허

